Nagamori IKEDA and Seiroku Udo : Genome Analysis of *Mentha tomentosa* D'URV. (Genome analysis in the genus *Mentha*, Part 3) (With English Summary, p. 150) Japan. J. Breeding Vol. 16, No. 3, 1966.

Synopsis. Genome analysis was carried out in *Mentha tomentosa* D'URV. by cross-fertilizing ability of this species with *Mentha rotundifolia*, *Mentha spicata*, and *Mentha arvensis*. The origin of this species was also discussed by comparing its morphological characteristics, genome constitution, and geographical distribution with those of the species above mentioned.

Mentha tomentosa D'URV. のゲノム分析

(ハッカ属のゲノム分析 第3報)

池田長守・宇渡清六

(岡山大学農学部)

I. 緒言

本種は *Mentha microphylla* C. KOCH あるいは, *M. orientalis* BRIQ. の異名で呼ばれることもある。BRIQUET(1897)のハッカ属の分類によると, 第II亜属 (*Menthastrum*), 第5節 (*Spicatae*), 第2列 (*Rotundifoliae*) に属する。ギリシヤおよび多島海の小アジア海岸地方に分布する有穂の種で, 外観, 第1列 (*Silvestres*) に属する *M. spicata* に酷似するが, 茎葉をおおう密綿毛中に分枝毛のあることによつて, これと区別せられる。

本種には, $2n=48$ の系統と, $2n=36$ の系統 (1963) がある。後者は前者の1系統中に混在して筆者等の手許に送られて来たものであつて, 雌雄配偶子とも全く不稔, 地下茎による以外に系統保存の方法がない。従つて分析の対象となし得ず, 本稿においては $2n=48$ の系統について分析を行なつた。

II. 実験材料および方法

供試材料 [262] (第1図) は, 北米ミシガン州のトッド・コンパニーから送付された *M. tomentosa* 3系統の

Fig. 1. Strains used as the parents of crossings. $\times 1/6$

[262] : *M. tomentosa* D'URV. ($2n=48$). [181] : *M. rotundifolia* (L.) HUDS. ($2n=24$). [4] : *M. spicata* L. var. *crispa* BENTH. ($2n=48$). [56] : *M. spicata* L. var. *crispa* BENTH. ($2n=54$). [1] : *M. spicata* L. ($2n=48$). [152-2] : *M. arvensis* L. var. *agrestis* (SOLE) SMITH ($2n=72$).

1965年4月1日受領

Table 1. Genome constitutions and native places of the strains used as the parents of crossings

Strain	Species	Genome constitution	Introduced from
262	<i>M. tomentosa</i> D'URV.		Michigan, U. S. A.
181	<i>M. rotundifolia</i> (L.) HUDS.	RR	Rome, Italy
4	<i>M. spicata</i> L. var. <i>crispa</i> BENTH.	RRS ^c S ^c	岡山県立農試倉敷分場
56	"	RRS ^c S ^c + $\alpha_1\alpha_1\alpha_2\alpha_2\alpha_3\alpha_3$	広島県福山市(野生)
1	<i>M. spicata</i> L.	RRSS	岡山県立農試倉敷分場
152-2	<i>M. arvensis</i> L. var. <i>agrestis</i> (SOLE) SM.	R ^a R ^a SSJJ	Antwerpen, Belgium

Note: [262] is the species to be analyzed, another strains are analyzers. Genomes R, R^a, S, S^c and J consist of 12 chromosomes respectively.

うちの一つである。本系統は高度の雌性不稔を示すが、結実正常である。根端で $2n=48$ を示し、正常の花粉4分子出現率は、55.5%と低い、PMCのMIには24_{II}が多く、まれに、23_{II}+2_Iを示すものもあつた。分析のために本種との交雑に用いた *M. rotundifolia* (L.) HUDS. [181], *M. spicata* L. var. *crispa* BENTH. [4], 同変種 [56], *M. spicata* L. [1] および *M. arvensis* L. var. *agrestis* (SOLE) SMITH [152-2] は、それぞれ第1, 2表

に示すとき入手先、ゲノム構成および染色体数をもち、稔性高く、減数分裂も規則正しい (1960, 1966)。ただし *M. arvensis* var. *agrestis* は、第3節 (*Verticillatae*) に属し、そのゲノム分析の経過は未発表の種である。

体細胞染色体数は、根端を押しつぶして、醋酸オルセインで染色して観察し、花粉母細胞は生の材料あるいはカルノア液で固定した材料を、醋酸カーミンで染色して観察した。

Table 2. Karyological characteristics, and pollen- and seed-fertility of the strains used as the parents of crossings

Strain	No. of chromosomes (2n)	Chromosome configurations at MI of PMC	% of normal pollen tetrad	% of completely developed anther	% of fertile pollen grains	% of seed set (open)
262	48	(24 _{II} , rarely 23 _{II} +2 _I)	55.5	69.7	7.1	59.0
181	24	12 _{II}	89.7	96.3	86.8	51.5
4	48	(24 _{II} , rarely 23 _{II} +2 _I)	49.1	86.1	82.9	55.7
56	54	(27 _{II} , 26 _{II} +2 _I , 24 _{II} +2 _{III})	62.0	85.2	85.8	55.7
1	48	24 _{II}	94.4	95.4	92.6	76.0
152-2	72	36 _{II}	96.8	96.6	93.9	69.4

III. 実験結果

分析のために、つぎの5交雑を行なつた。

1) 交雑 28 *M. tomentosa* (2n=48) [262] × *M. rotundifolia* (2n=24) [181]

両親は、第5節第2列に属する近縁種であつて、共に分枝毛をもつ。雌親 [262] は、茎葉多毛、茎は直立、葉は小さく、披針形、鋭鋸齒縁、鋭頭、歪心脚、無柄。偽輪生花序は梢端に集つて穂状をなすが緊密ではない。花粉親 [181] は、卵円形、鈍頭、鈍鋸齒縁、脈深く、あみ目条

Table 3. Pollen- and seed-fertility, and % of normal pollen-tetrad of the F₁ clones

Clone	Strains used as parents	No. of chromosomes (2n)	% of normal pollen-tetrad	% of completely developed anther	% of fertile pollen grains	% of seed set (open)	% of germination of seed
F ₁ 130-2	262 × 181	36	—	5.0	0	0.5	—
-3	"	"	56.0	97.8	11.4	0.8	—
-15	"	"	38.8	degenerated	0	4.0	—
F ₁ 131-2	262 × 4	48	69.1	vestigial	0	87.8	0.6
-14	"	"	—	"	0	69.3	
F ₁ 186-1	262 × 56	51	—	"	0	63.5	0
-2	"	"	61.7	"	0	37.1	
F ₁ 129-2	262 × 1	48	—	"	0	75.0	50.5
-4	"	"	83.6	99.6	83.3	87.0	
F ₁ 187-1	262 × 152-2	60	12.8	vestigial	0	2.0	—
-2	"	"	7.8	63.8	46.2	0	—
-3	"	"	30.6	degenerated	0	0	—

紋のある葉, 強い, 低出葉の着生した, 地上を走るひこばえ, およびトリメチルアミンを思わせるような強い香氣によつて特徴づけられている。F₁ [F₁ 130], 3系統育成したが, いずれも全株短毛でおおわれ, 葉は披針形ないし楕円形, 鋭頭, 垂心脚, 鋭鋸歯縁, わずかに有皺。M. rotundifolia 特有の香氣を欠き, 低出葉の着生したひこばえなく, 繁殖茎は半地下性で, 鱗片状の葉を具えていた。偽穂は中ないし中長, 緊密でなく, F₁ は, 形態的にやや傾母的であつた (第3図)。雄ずいは多くの花において退化していた。完全雄ずいを抽出する場合も, 葯の裂開が困難であり, 葯中に稔性花粉がないか,

あつても少なかつた。結実率は 0.5~4.0% で, 極端に低かつた (第3表)。

F₁ の体細胞染色体数は $2n=36$, PMC の MI における染色体接合型は, [F₁ 130-3] と [F₁ 130-15] において, $12_{II}+12_I$ を示した (第2図)。正常花粉4分子率は, 減数分裂の不規則な割合に高く, 39~56% を示した (第3表)。

2) 交雑 29 *M. tomentosa* ($2n=48$) [262] × *M. spicata* var. *crispa* ($2n=48$) [4]

花粉親は第1列に属し, わが国各地の小川の辺などの湿地に自生して, オランダハッカと呼ばれる。全株無毛, 葉は無柄, 披針形あるいは, 長楕円状披針形で有皺, 鋭頭, 心脚, 鋭鋸歯縁。穂状花序は円柱形, 梢頭枝端に頂生, 下部はやや離生する。F₁ を2系統育成したが, [F₁ 131-2] は, 全株無毛, 茎葉の伸びがよく, 偽穂はほつそりとして, やや粗。[F₁ 131-14] は, 全株短毛を被り, 偽穂は太く, 緊密, 下部離生。その他の点ではよく似ていた。共に雌性不稔であつたが, 高い結実率を示した。しかし両系統の種子検査の結果を総合すると, 内容のある種子は 5.1%, 発芽率 0.6% で, 雌性配偶子も高度の不稔性を示した (第3表)。体細胞染色体数はいずれも 48。[F₁ 131-2] で観察した正常花粉4分子出現ひん度は 69% と高く (第3表), PMC の MI の観察数は少なかつたが, 1 PMC 中に, 13~16 の2価染色体が見られた (第4表) (第2図)。

Table 4. Chromosome configurations at MI of PMC's of the F₁ clones between *M. tomentosa* D'URV. ($2n=48$) [262] and *M. spicata* L. var. *crispa* BENTH. ($2n=48$) [4]

Clone	Type	$13_{II}+22_I$	$14_{II}+20_I$	$15_{II}+18_I$	$16_{II}+16_I$	Total
F ₁ 131-2		1	2	0	1	4

3) 交雑 30 *M. tomentosa* ($2n=48$) [262] × *M. spicata* var. *crispa* ($2n=54$) [56]

花粉親は前節の花粉親と同一変種で, 形態的に区別困難であるが, 染色体数を異にする。F₁ [F₁ 186] の2栄養系はともに無毛, 葉は披針形, 鋭頭, 鋭鋸歯縁, 有皺。偽穂は細く緊密で中位の長さ, 形態的に, いくぶん花粉親に類似していた。両 F₁ 栄養系とも雌性不稔であつたが, 結実率は可なり高かつた。しかし, 種子の発芽率は 0% で, 事実上雌性配偶子も全く不稔性であつた (第3表)。F₁ の染色体数は $2n=51$ で両親の和の半を示した。PMC は [F₁ 186-2] で調べたが, MI における2価染色体の出現は, 1 PMC 中に 12 から 22 におよんだ (第5表)。この幅は, 前節の F₁ の場合より広いが, 観察数が

Fig. 2. Mitotic and meiotic figures of *M. tomentosa* D'URV. and F₁ clones which involve *M. tomentosa* D'URV. ×1,425

[262]: *M. tomentosa*, SM: $2n=48$, MI: 24_{II} . [F 130]: SM: $2n=36$, MI: $12_{II}+12_I$. [F 131]: SM: $2n=48$, MI: $14_{II}+20_I$. [F 186]: SM: $2n=51$, MI: $17_{II}+17_I$, $12_{II}+27_I$. [F 187]: SM: $2n=60$, MI: $18_{II}+24_I$, $14_{II}+32_I$. [F 129]: SM: $2n=48$, MI: 24_{II} .

Note: SM=somatic metaphase, MI=first metaphase of meiosis. Cf. Fig. 4, as to the parents of the F₁ clones showed above.

Table 5. Chromosome configurations at MI of PMC's of the F_1 clones between *M. tomentosa* D'URV. ($2n=48$) [262] and *M. spicata* L. var. *crispa* BENTH. ($2n=54$) [56]

Clone \ Type	12 _{II} +27 _I	13 _{II} +25 _I	14 _{II} +23 _I	15 _{II} +21 _I	16 _{II} +19 _I	17 _{II} +17 _I	18 _{II} +15 _I	19 _{II} +13 _I	20 _{II} +11 _I	21 _{II} +9 _I	22 _{II} +7 _I	Total
F_1 186-2	5	3	2	5	5	5	2	4	1	1	3	36

Fig. 3. F_1 clones which involve *M. tomentosa* D'URV. $\times 1/6$
Cf. Fig. 4, as to the parents of the F_1 clones showed above.

多いためであろう。

4) 交雑 31 *M. tomentosa* ($2n=48$) [262] $\times$ *M. spicata* ($2n=48$) [1]

花粉親は長大な偽穂と長楕円状披針形、鋭頭、鋭鋸歯縁、心脚、無柄の大きな葉を有する有毛系統である。 F_1 [F_1 129] は多毛で、分枝する毛をもつ。葉は無柄、披針形ないし楕円形、鋭頭、心脚、鋭鋸歯縁。偽穂は短ないし中、緊密で太く、下部離生。やや傾母の形態を示した。結実率は、育成両栄養系とも高く、その種子はよく発芽したが、雄性不稔の系統と雄性可稔の系統とあつた(第3表)。染色体数は $2n=48$ 、減数分裂は [F_1 129-4] について調べたが、MI には、どの PMC も 24_{II} を示し

た(第2図)。正常花粉4分子の割合も高かつた。

5) 交雑 32 *M. tomentosa* ($2n=48$) [262] $\times$ *M. arvensis* var. *agrestis* ($2n=72$) [152-2]

花粉親 [152-2] は第3節 (*Verticillatae*) に属する。全株短毛でおおわれ、茎は匍匐し、葉は広楕円形、有柄。花序が腋生して、形態的に雌親 [262] との相違が著しい。腋生花序は、偽穂に対して優性で、そのため F_1 [F_1 187] は、形態的に花粉親に類似するところが多かつた。雄ずいを抽出し、葯の中に醋酸カーミンに染まる花粉を含む栄養系もあつたが、花粉不稔の栄養系が多く、また結実はほとんどなかつた。正常花粉4分子出現率も低かつた(第3表)。体細胞染色体数は 60、両親の和の

Table 6. Chromosome configurations at MI of PMC's of the F_1 clones between *M. tomentosa* D'URV. ($2n=48$) [262] and *M. arvensis* L. var. *agrestis* (SOLE) SMITH ($2n=72$) [152-2]

Clone \ Type	13 _{II} +34 _I	14 _{II} +32 _I	15 _{II} +30 _I	16 _{II} +28 _I	17 _{II} +26 _I	18 _{II} +24 _I	19 _{II} +22 _I	20 _{II} +20 _I	21 _{II} +18 _I	22 _{II} +16 _I	Total
F_1 187-1	2	1	1	0	0	3	1	2	2		12
-2	1	4	2	1	2	1	1	0	0	1	13
-3		1	2	3	1						7
Total	3	6	5	4	3	4	2	2	2	1	32

Fig. 4. Figure of genome analysis in *M. tomentosa* D'URV.

半を示した。PMC の MI に現われる 2 価染色体数の変異は、1 PMC 中、13 から 22 までにわたつた (第 6 表)。

IV. 実験結果の分析並びに考察

M. tomentosa D'URV. [262] は、 $2n=48$ であつて、ハッカ属の倍数性系列の中の 4 倍種である。しかし、減数分裂のさいに 4 価染色体が現われるとか、その他、同質 4 倍体を思わせるような不規則性はない。また、分析に用いた *M. rotundifolia* [181] は近縁の基本 2 倍種であり、*M. spicata* [1] および、その変種 var. *crispa* [4] や [56] も近縁の異質 4 倍種および高 4 倍種であるから、これらの分析種と [262] との間の雑種 F_1 の PMC の MI に現われる 2 価染色体は、両親に共通のゲノムに属する染色体間の異親接合によつて生じたものと推定される。この前提のもとに交雑結果を分析する。

まず、交雑 28 の F_1 [F_1 130] の PMC の MI に現われる 12_{II} は、*M. tomentosa* が R ゲノムをもつことを示す。つぎに、交雑 29 の F_1 [F_1 131] は、PMC の MI に $(13-16)_{II}$ を示すが、これは、*M. tomentosa* の R 以外の、もう一つのゲノムは、[4] のもつ S° ではなくて、これと部分相同のゲノムであることを示す。また、交雑 31 からの F_1 [F_1 129] の PMC の MI において、全染色体が完全に 2 価を作ることは、*M. tomentosa* [262] と *M. spicata* [1] とが、全く同一のゲノム構成であることを示すもので、この交雑結果から、[262] のもう一つのゲノムは、S にほかならぬことがわかる。

交雑 29 と交雑 31 とは、両親の形態が類似し、かつ、両親とも $2n=48$ であるために、交雑の成否に対して、決定的な証明材料がない。この欠を補い、かつ、確めるために、交雑 30 と交雑 32 を行なつた。交雑 30 の F_1 [F_1 186] は $2n=51$ であるが、これは、雄親 *M. spicata* var. *crispa* [56] のハプロイド染色体数 $n=27$ が交雑によつて F_1 に入つたため、交雑の成功が確認される。この

F_1 の PMC の MI の $(12-22)_{II}$ は、交雑 29 の F_1 と同様、[262] が R ゲノムならびに、 S° と部分相同のゲノムを持つことを再確認させる。*M. arvensis* var. *agrestis* [152-2] は、 $2n=72$ であり、そのゲノム構成は、 $R^\circ R^\circ SSJJ$ であるから、[262] が S ゲノムをもつならば、[262] $\times$ [152-2] (交雑 32) の F_1 の PMC の MI には、少なくとも 12_{II} が現われなければならない。 F_1 187 は、実際、PMC の MI において $(13-22)_{II}$ を示し、[262] が S ゲノムをもつことを再確認させた。以上の交雑実験の結果、*M. tomentosa* [262] は、RRSS なるゲノム構成をもつことが明らかである。

つぎに、*M. tomentosa* の起原について考えて見たい。BRIQUET (1897) の分類では、分枝毛をもつという特徴を標識として、*M. tomentosa* は *M. rotundifolia* と共に、*Spicatae* 節の第 2 列に編入されていることを著書でのべたが、*M. rotundifolia* は前説で述べたように、分枝毛の他に、葉の形態や、ひこばえの性状、また、特種な香氣において、*M. spicata* と明らかに区別し得る特徴をもっているのに対し、*M. tomentosa* は、多型の *M. spicata* の変異の中に包含されて、分枝毛以外の点では、形態的に、*M. spicata* と区別することが困難である。それゆえ筆者等は、*M. spicata* が自然交雑によつて *M. rotundifolia* の分枝毛をとり入れて、*M. tomentosa* に進化したのではないかと考える。これはゲノム構成の上から見ても、RRSS $\times$ RR から RRS が生じ、さらに S ゲノムが倍加して RRSS となることが可能であるし、またこの 3 種の地理的分布からも、その可能性が認められるからである。すなわち、*M. rotundifolia* は、西部地中海沿岸地方を原産地として、中部ないし西部欧州に分布しているのに対し、*M. spicata* は、欧州、アジア、アフリカにわたつて広く分布し、したがつて、両種は、*M. rotundifolia* の分布する全域において接触す

る。しかし自然交雑が起つたとすれば、両種の分布密度が高く、温暖で、生育、繁殖に最適と思われる地中海沿岸の一地方においてであろうと推定される。雑種は、その後東方へ移動して、現在の *M. tomentosa* の分布地域、東部地中海沿岸地方を占むるに至つたものと考えるのである。

V. 摘 要

1. ゲノム構成既知の *M. rotundifolia* (RR), *M. spicata* (RRSS), *M. spicata* var. *crispa* の2系統 (RRS^cS^c と RRS^cS^c+ $\alpha_1\alpha_1\alpha_2\alpha_2\alpha_3\alpha_3$) ならびに *M. arvensis* var. *agrestis* (R^aR^aSSJJ) を分析種とし、これらを *M. tomentosa* (2n=48) と交雑して、後者のゲノム構成を RRSS と決定した。

2. *M. rotundifolia*, *M. spicata* および *M. tomentosa*

の形態的特性を比較し、ゲノム構成を考慮し、地理的分布を勘案して、*M. tomentosa* は *M. spicata* と *M. rotundifolia* の自然交雑に由来するものと推定した。

参 考 文 献

- BRIQUET, J. 1897. *Labiatae*. 117. *Mentha*. 317-424. In ENGLER und PRANTL, *Natürliche Pflanzenfamilien*. 4 (3a).
- 池田長守・宇渡清六・中村 勝 1960. オランダハッカ (*Mentha spicata* L. var. *crispa* BENTH.) に関する研究 (ハッカ属のゲノム分析, 第1報). 育種 10 (2): 89~95.
- 池田長守・宇渡清六 1963. ハッカ属の基本染色体数について. 岡山大農学報 21: 9~15.
- 池田長守・宇渡清六 1966. *Mentha spicata* L. のゲノム分析 (ハッカ属のゲノム分析, 第2報). 育種 16(2): 96~106.

Summary

The authors have concluded that the genome constitution of *Mentha tomentosa* D'URV. is RRSS from the result of studies by cross-fertilizing this species with *M. rotundifolia*, *M. spicata*, *M. spicata* var. *crispa*, and *M. arvensis* var. *agrestis*, the genome constitutions of which are already known. Further, the authors inferred that *M. tomentosa*

must have originated as a natural hybrid between *M. rotundifolia* and *M. spicata* by comparing their morphological characteristics and genome constitutions with those of *M. tomentosa* and at the same time by considering the geographical distributions of these species.